

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNEE 1954

^{No}
134

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

par

P A R I E N T E Daniel

Né le 26 Septembre 1927 à ORAN (Algérie)

Présentée et soutenue Publiquement le 23 Février 1954

**ESSAI D'INTERPRETATION
DE L'ACTION DES ANTIBIOTIQUES
ET DE CERTAINES SUBSTANCES CHIMIQUES
SUR LE VIRUS GRIPPAL**

PRÉSIDENT ; M. le PROFESSEUR **P. MOLLARET**

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1954

N°

T H E S E
POUR LE
D O C T O R A T E N M E D E C I N E
(Diplome d'Etat)

P A R

P A R I E N T E D A N I E L
Né le 26 Septembre 1927 à Oran (Algérie)

Présentée et soutenue Publiquement

le 23 Février 1954

ESSAI D'INTERPRETATION DE L'ACTION DES ANTIBIOTIQUES
ET DE CERTAINES SUBSTANCES CHIMIQUES SUR LE VIRUS GRIPPAL

P R E S I D E N T

Monsieur le Professeur M O L L A R E T

A M O N P E R E

LE DOCTEUR AUGUSTE PARIENTE

Conseiller Départemental de l'Ordre
des Médecins d'Oran

Chevalier de la Légion d'Honneur

Cette thèse est le faible témoignage
de ma tendre affection et de ma vive
gratitude.

A M A M E R E

Avec toute ma tendresse

A M A F I A N C E E

A M E S S O E U R S

A M E S B E A U X - F R E R E S

LE DOCTEUR ROGER BENDRIEM

MARCEL LASRY Externe des Hopitaux

A T O U T E M A F A M I L L E

A T O U S M E S A M I S

De tout coeur



A MONSIEUR LE PROFESSEUR M O L L A R E T

Professeur de clinique des maladies infectieuses
Chef de Service à l'Institut Pasteur

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter
la Présidence de cette thèse

Hommage respectueux

A MONSIEUR LE DOCTEUR

DUJARRIC DE LA RIVIERE

Sous Directeur de l'Institut Pasteur

Membre de l'Académie de Médecine

Commandeur de la Légion d'Honneur

Qui m'a permis de travailler
dans son service

En hommage de ma respectueuse gratitude

A NOS MAITRES DES HOPITAUX

LE PROFESSEUR HUGUENIN

Professeur de Cancérologie Médicale et Sociale
Directeur de l'Institut GUSTAVE ROUSSY

LE PROFESSEUR CHEVALLIER

Professeur de Clinique des maladies du sang

A NOS MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE

LE PROFESSEUR POLONOVSKI

Professeur de Chimie médicale

LE PROFESSEUR DELARUE

Professeur d'Anatomie Pathologique

LE PROFESSEUR AGREGE DELMAS

Chef des travaux anatomiques

A NOS MAITRES DE L'INSTITUT PASTEUR

A NOS MAITRES DE L'INSTITUT GUSTAVE ROUSSY

Que nous prions de trouver ici, l'expression
de notre reconnaissance pour l'enseignement
que nous avons reçu d'eux, tant au cours de
nos études médicales qu'au cours de nos
diplômes de biologiste.

A MADEMOISELLE CATEIONE,
Chef du Laboratoire de la grippe
à L'Institut PASTEUR

Nous avons reçu dans son Laboratoire
l'accueil et la compréhension la plus
bienveillante. Elle nous a sans cesse
guidé de ses conseils les plus éclairés
et nous a inspiré le sujet de cette thèse

Qu'elle veuille bien trouver dans ce travail
l'expression de notre gratitude et nos
remerciements les plus sincères

A MONSIEUR CLAUDE HANNOUN
Assistant au laboratoire de la grippe

Amicale reconnaissance et nos plus
vifs remerciements

A MONSIEUR LE DOCTEUR ABAZA

Ancien interne des Hôpitaux de Paris
Assistant des Hôpitaux de Paris
Médecin-Chef de l'Hôpital de Villeneuve-Saint-Georges

Chevalier de la Légion d'Honneur

Dont les encouragements constants
et les conseils riches d'enseignements
nous ont toujours été très précieux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LEVADITI J.

Chef de laboratoire à l'INSTITUT PASTEUR.

Nous avons toujours trouvé dans son
laboratoire l'accueil le plus
chaleureux et les encouragements les
plus affectueux.

A lui qui nous a initié au domaine
de la biologie, notre plus profonde
reconnaissance.

A MES CAMARADES D'INTERNAT

A MES CAMARADES DE LABORATOIRE

MEIS ET AMICIS

ESSAI D'INTERPRETATION DE L'ACTION DES ANTIBIOTIQUES
ET DE CERTAINES SUBSTANCES CHIMIQUES SUR LE VIRUS

GRIPPAL

INTRODUCTION

- - - - -

La grippe, maladie infectieuse, extrêmement contagieuse est spécifique d'un virus dont les caractéristiques sont maintenant bien connues. Du point de vue clinique, le virus détermine un syndrome infectieux, qui apparaît brutalement, avec céphalée, fièvre, courbature. Sa voie d'entrée est l'arbre respiratoire supérieur où il entraîne une atteinte plus ou moins profonde allant de la rhino-pharyngite à la pneumopathie. Les lésions qu'il provoque, amènent une desquamation de l'épithélium trachéo-bronchique, épithélium qui n'est pratiquement reconstitué qu'après 15 jours ou trois semaines. C'est la raison pour laquelle des germes saprophytes deviennent fréquemment pathogènes, acquièrent souvent une grande virulence et peuvent être la source de nombreuses complications à tous les niveaux du tractus respiratoire. La thérapeutique à appliquer peut varier suivant l'intensité de l'infection et en fonction des infections bactériennes secondaires.

Nous sommes loin de 1892, époque où PFEIFFER attribuait l'infection grippale à l'*Hémophilus Influenzae*. Ce fut en 1918-1919 que la spécificité du bacille de Pfeiffer fut mise en doute. DUJARRIC de la RIVIERE d'une part, NICOLLE et LE BAILLY d'autre part, expérimentèrent sur des sujets volontaires et sur le singe, à partir de matériel filtré et reproduisirent expérimentalement la maladie humaine spontanée. Ils démontrèrent donc qu'un virus filtrant était en cause.

En 1933, à Londres, Wilson SMITH, ANDREWES et LAIDLAW mettent en évidence la sensibilité du furet à l'infection grippale. En 1935 BURNET fait les premiers essais de culture du virus sur la membrane chorio-allantoïque d'oeuf embryonné. Depuis lors, la technique d'inoculation à l'oeuf, par la voie appropriée, est celle utilisée aujourd'hui pour la plupart des études effectuées sur le virus grippal. En 1941, HIRST découvre que le liquide infecté agglutine les hématies de poule. Continuant ses recherches dans ce domaine, il observe que l'agent agglutinant est le virus et que les sérums neutralisant ce virus inhibent cette agglutination.

Les anticorps présents dans les sérums de malades atteints de grippe ou d'animaux immunisés avec une souche homologue inhibent donc spécifiquement l'agglutination. Cette réaction biologique permet par conséquent d'établir le diagnostic de grippe, et de préciser le type antigénique du virus en cause. Mais cette découverte ne fut pas seulement appliquée au séro-diagnostic de grippe, elle eut une portée beaucoup plus grande car les recherches effectuées sur les virus de la grippe pour mettre en évidence ou tester leurs nombreuses propriétés et qualités sont toutes basées sur la présence ou l'absence d'hémagglutination.

La possibilité d'isoler, d'adapter, de cultiver et de titrer le virus grippal dans l'oeuf de poule embryonné a rendu possible l'étude de l'action de différents agents chimiques sur ce virus et la détermination de leur pouvoir curatif à l'égard des infections grippales. Parallèlement cette étude, sous certaines conditions,

a pu être effectuée sur la souris. Leur action sur l'atteinte grippale humaine reste à démontrer.

Les antibiotiques ont-ils une action directe sur le virus et y-a-t-il une thérapeutique spécifique de la grippe ? Nous essaierons de faire une mise au point de ce sujet et nous verrons que les recherches dans ce domaine n'en sont qu'à leur début.

ANTIBIOTIQUES.

La découverte de la pénicilline suscita un grand enthousiasme, beaucoup de chercheurs s'orientèrent dans cette voie et chaque année de nouveaux antibiotiques s'ajoutent au Manuel thérapeutique, montrant leur action spécifique pour telle ou telle bactérie ou permettant, grâce à leur association, un traitement plus efficace et plus rapide. On pensa alors qu'il allait être aisé de dominer les maladies infectieuses. Malheureusement, les maladies à virus n'ont pas répondu à cet espoir et les premiers essais effectués avec la pénicilline, la streptomycine et la chloromycétine se sont montrés complètement négatifs. De l'action virulicide ou virustatique de l'auréomycine, il est difficile de conclure. Une étude sérieuse fut pratiquée aux Etats Unis dans l'armée, lors d'une épidémie grippale de type A', durant l'hiver 1949-1950. Cette étude porta sur 150 cas sérologiquement contrôlés. Sur ces 150 malades :

69 furent traités à l'auréomycine

43 " " à la pénicilline

et 38 ne reçurent pas de traitement.

L'épidémie débuta brusquement la première semaine de Janvier 1950, atteignit son maximum à la troisième semaine et persista environ jusqu'à la mi-février. On ne nota pas de complications bactériennes.

Pendant les trois premières semaines de l'épidémie, 50 % des malades hospitalisés furent traités à l'auréomycine, et 50 % à la pénicilline. Dans la deuxième moitié de l'épidémie, 50 % furent traités à l'auréomycine et 50 % ne reçurent pas de traitement.

Avant toute thérapeutique, les examens courants, d'urine, de sang et de crachats furent pratiqués ainsi que des hémocultures dans les cas les plus sévères, présentant un syndrome pulmonaire. Des gargarismes furent effectués sur six malades, l'inoculation, à partir de ces prélèvements, fut faite sur oeuf embryonné et sur furet, un virus grippal de type A' fut isolé.

Les réactions sérologiques (fixation du complément - parallèlement réaction de Hirst) pratiquées, se montrèrent positives pour une infection grippale de type A'.

Les doses d'auréomycine prescrites étaient de 0,25 gr toutes les six heures, par voie orale.

Les doses de pénicilline prescrites étaient de 500.000 U..., une seule fois par 24 heures, par voie intra-musculaire

<u>Dose totale</u>		<u>Durée du traitement</u>
Auréomycine	4,2 gr	4, 2 jours
Penicilline	2.700.000 U.	4, 5 jours

<u>Traitement</u>	<u>Malades</u>	<u>Durée de la maladie</u>	<u>Durée de l'hospita- lisation</u>	<u>Durée de la période de Pyrémie.</u>
Auréomycine	69	4,7 j.	2,7 j.	39 h
Penicilline	43	4,2 j.	2,7 j.	39 h 5
Pas de traitement	38	4,9 j.	3 j.	40 h 6

La durée de la fièvre a été calculée depuis le début du traitement jusqu'au retour à 37°. Comme il s'est écoulé un certain laps de temps entre l'hospitalisation et l'application du traitement, une correction adéquate a été faite dans le calcul de la durée de la fièvre pour le groupe de malades qui n'a pas été traité.

De cette expérience, il ressort que ni la penicilline, ni l'auréomycine n'ont influencé d'une façon évidente le cours de la maladie. FINLAND précédemment, avait obtenu des résultats différents. Il traita à l'auréomycine 18 malades choisis parmi ceux qui présentaient une affection sévère. Des germes pathogènes furent trouvés dans les prélèvements de gorge des sujets ne présentant pas de signes pulmonaires et aucun germe ne fut décelé dans les crachats de ceux présentant un syndrome pneumonique. Les doses d'auréomycine données par FINLAND sont nettement supérieures à celles prescrites dans l'expérience précédente. Il obtint une baisse importante de la température pour 16 malades sur 18, dans les 36 premières heures, soit 24 heures après l'absorption de la première dose d'auréomycine.

Au bout de 48 heures, tous étaient apyrétiques, mais trois d'entre eux ont refait un petit clocher thermique à 37°8, le 3eme jour. La disparition des symptomes s'est faite dans les mêmes délais. La toux a persisté pendant des périodes s'échelonnant de 5 à 10 jours. L'un d'eux présenta un syndrome méningé. Le liquide céphalo-rachidien était celui d'une méningite lymphocytaire bénigne. Les céphalées disparurent très rapidement, nausées et vomissements durèrent deux jours. Les signes pulmonaires radiologiques ne sont plus visibles entre le 7eme et le 9eme jour.

Voir tableau page 7.

Malade	Sexe	Age	Jours de maladie	Syndrome	Température	Leucocyte	Sévérité de la maladie	Inhibition de l'hé- moglobine.			
								PR 8	II	I	II
1	F.	21	4	Trach. Bron.	38°9	8.200	modérée	1/8	1/32	1/8	I/8
2	M.	25	3	" "	39°6	5.600	"	1/4	1/64	1/4	I/4
3	F.	14	11(4)	P. Atyp.	40°3	11.000	"	1/128	1/128	I/4	1/4
4	M.	16	16(8)	Trach. Bron.	38°9	9.600	"	1/128	1/256	1/16	1/16
5	M.	13	2	" "	39°4	5.600	sévère	0	1/32	0	0
6	F.	24	2	" "	39°4	6.700	modérée	0	1/4	0	0
7	F.	68	5	P. Atyp.	39°	9.500	sévère	1/8	1/128	1/32	1/16
8	F.	42	4	"	38°9	6.700	modéré	0	1/16	1/4	1/4
9	F.	21	3	Trach. bron.	39°9	7.000	léger	1/16	1/64	1/8	1/8
10	F.	40	3	" "	38°9	4.700	modérée	0	1/8	1/4	0
11	M.	33	3	" "	39°4	7.000	"	0	1/16	1/4	1/4
12	F.	73	4	" "	39°9	3.900	sévère	1/4	1/16	1/4	1/4
13	F.	21	2	" "	40°	10.000	modérée	1/16	1/128	0	0
14	F.	48	8	P. Atyp.	38°9	9.000	"	-	1/512	-	1/16
15	F.	72	3	"	39°	11.000	"	0	1/32	1/16	1/16
16	M.	21	7	Trach. Bron.	40°5	13.100	"	1/8	1/32	1/16	1/16
17	M.	34	4	P. Lobaire	38°3	19.600	sévère	0	1/128	1/4	1/4
18	F.	33	5	P. Atyp.	38°9	10.500	léger	1/4	1/32	1/16	1/16

() : nombre de jours après le début de la pneumonie ; les autres nombres correspondent à la durée de

0 : 1^{er} maladie grippale

- : réaction non effectuée

7/ : virus isolé

Une autre observation porte sur 13 malades atteints de grippe, le diagnostic ayant été confirmé sérologiquement. Certains présentaient des complications pulmonaires, soit pneumonie atypique, (atteinte due au virus) soit pneumonie lobaire probablement d'origine bactérienne surajoutée.

12 malades sur 13 présentèrent une chute importante de la température entre 12 et 24 heures après le début du traitement et les symptômes disparurent à la fin du 2^{ème} jour. Il n'y avait plus de signes pulmonaires au bout de 4 à 7 jours. Les germes trouvés chez certains, dans les cultures de crachats n'étaient plus décelables après 24 heures. Les concentrations administrées furent en moyenne de 13,3 gr. en 4 jours 1/2. Dans cette expérience, le traitement à l'auréomycine s'est montré efficace, mais dans ce groupe d'affections grippales avec complications pulmonaires bactériennes, il est difficile de savoir quel est le rôle de cet antibiotique sur le virus lui-même. Il faut noter également que les concentrations données sont supérieures à celles prescrites dans la première expérience que nous avons rapportée. Dans les expériences 2 et 3, la période de pyrexie se rapportant à l'atteinte virale, semble nettement raccourcie après adjonction d'auréomycine. On sait que cet antibiotique diffuse facilement dans l'organisme ; pour des doses quotidiennes, chez l'adulte, de 3 ou 4 grs. on obtient dans le sang une concentration moyenne de 2 à 5 mg par cm³, et les urines restent bactériostatiques pendant plus d'un jour, après l'administration chez l'homme d'une dose unique de 0,5 à 0,75 gr. per os.

L'élimination maxima se fait entre la deuxième et la sixième heure. Il faut noter que l'auréomycine prescrite par voie orale ne diffuse que faiblement dans les liquides céphalo-rachidiens ou pleuraux ; les échecs dans les syndromes nerveux ou pleuro-pulmonaires sont peut-être dus à une trop faible concentration locale de l'antibiotique.

L'expérience de FINLAND peut prêter à discussion, mais la chute rapide de la température dans les cas purement grippaux, sans complications, doit être retenue.

TERRAMYCINE -

Les américains expérimentèrent avec la Terramycine sodique sur l'oeuf embryonné, sur la souris :

a) sur oeuf embryonné : Ils se servirent d'embryons de 10 à 11 jours dont une série fut faite avec la terramycine seule, une autre série avec traitement à la terramycine, avant l'inoculation, une troisième série avec traitement après l'inoculation. La souche de virus grippal qui servit à ces expériences fut la souche A PR 8.

De ces études il ressort :

1°) que la terramycine sodique injectée à la dose de 20 mg dans la cavité allantoïque d'oeufs embryonnés de 10 à 12 jours est à la limite de la toxicité. 3 embryons sur 8 sont morts au bout de 40 heures après l'injection de l'antibiotique.

2°) que la terramycine inoculée à des embryons de 10 jours (lots de 6) par voie allantoïque à des doses de 10 - 15 et 20 mg, auxquels on injecte une heure après 10 ID 50 de virus grippal (souche A PR8) montre une propriété virustatique.

Les liquides allantoïques prélevés 40 heures après l'inoculation du virus ne témoignent d'aucune multiplication de ce dernier. Une expérience faite de la même manière, mais avec une concentration de virus plus importante (1000 ID 50) ne donna un résultat que pour les oeufs ayant reçu une dose de terramycine de 20 mmgrs, dose à la limite de la toxicité pour l'embryon.

3°) Si la terramycine est injectée aux embryons de 10 jours, 3 heures après l'inoculation du virus, on ne trouve aucune différence entre les oeufs non traités à la terramycine, et ceux qui ont été traités ; quelle que soit la dose d'antibiotique utilisée le virus s'est multiplié librement.

De ces résultats, les auteurs concluent que la terramycine n'exerce aucune influence sur le virus lui-même.

Des expériences faites au Centre National de la Grippe à l'Institut Pasteur (Cl. Hannoun non publié) ont montré que si la terramycine sodique injectée à l'oeuf embryonné de 10 jours, par voie allantoïque, une demi-heure après inoculation de virus grippal (souche A PR8 50 ID 50) ne peut inhiber totalement la multiplication du virus, elle la réduit cependant dans une proportion appréciable et ce, à des doses beaucoup moindres que celles utilisées par les auteurs américains. C'est ainsi que l'injection de 0,75 mmgr de terramycine dans l'oeuf embryonné réduit de 25 % la quantité totale de virus produite en 30 heures ; 1,5 mgr environ réduit de 50%.

La Terramycine a donc une action virustatique sur le virus même, et ce, à des doses bien inférieures à celles employées par les chercheurs américains.

b) Expériences sur la souris.

Les études faites sur la souris ne montrent pas de réponse significative, mais nous pensons que ces expériences doivent être poursuivies différemment.

Expérimentation avec le chlorhydrate de terramycine.

L'étude du chlorhydrate de terramycine a été faite également sur oeuf et souris, ainsi que sur l'homme.

Des expériences furent effectuées sur l'oeuf embryonné

1) avec des mélanges de chlorhydrate de terramycine et de virus à différentes dilutions dans milieu tamponné et non tamponné.

2) en inoculant d'abord la Terramycine, puis immédiatement après le virus

Dilution de virus	Dose de Terramycine en mg par oeuf						Virus non traité. Control pH : 7,2
	non neutralisée			neutralisée			
	1	2	3	4	5	6	
	10mg	5mg	1mg	10mg	10mg	injections	
	pH : 3,6	pH:3,8	pH:6,1	pH:7,2	pH:7,1	séparées	
						10mg °	
10 -2	0/5 (+)	0/5	5/5				
10 -3	0/5	0/5	5/5				
10 -4	0/5	0/5	5/5				
10 -5	0/10	0/10	10/10			10/10	
10 -6	0/10	0/10	7/10	16/16	16/16	8/10	26/26
10 -7	0/10	0/10	8/10	8/16	12/16	7/10	22/26
10 -9	0/10	0/10	0/10	2/16	0/16	1/10	1/26
No virus	0/10	0/10	0/10	1/14	0/14	0/10	
ID 50	<10 -2	<10 -2	10 -7,2	10 -7,1	10 -7,3	10 -7,2	10 -7,4

° Virus injecté séparément immédiatement après la Terramycine

Dans les autres colonnes, virus et antibiotique sont mélangés avant inoculation
(+) Hémagglutination positive / nombre d'oeufs inoculés.

De ce tableau on peut retenir le résultat de la colonne 4 : la dilution de $10^{-7,1}$ comme dose ID 50 représentant une différence dont on peut tenir compte par rapport à celle des témoins.

Les résultats négatifs obtenus avec des mélanges à pH $\angle 6$ sont sans valeur, car on sait que le virus ne peut se multiplier que dans un milieu à pH $\searrow 6$.

Les études sur la souris se sont montrées négatives d'après les expérimentateurs, avec le chlorhydrate de terramycine, que l'administration soit faite per os ou par voie sous-cutanée, ou directement dans l'estomac à l'aide d'un petit tube adapté spécialement. La souche utilisée était de type A (PR 8).

Dilution du virus	Terramycine en mg par jour		
	10	1	0
10^{-2}	9/10	7/10	8/10
10^{-3}	8/10	9/10	8/10
10^{-4}	8/8	8/9	6/10
10^{-5}	6/10	7/9	2/10
10^{-6}			
non infecté	1/6	0/6	
	Nombre de morts	/ Nombre de souris	

D'après ce tableau aucune conclusion ne peut être tirée.

L'expérience suivante montre que l'antibiotique sous forme de chlorhydrate administrée 4 heures avant l'inoculation de virus ou 24 ou 48 heures après, ne modifie pas le taux de mortalité (voir tableau p.13).

TERRAMYCINE

Dilution de virus	: Avant l'injection de virus	: 24 heures après l'inoculation	: 48 heures après l'inoculation	: Témoins infectés non traités
10 - 2	: 18/20	: 10/10	: 9/10	: 10/10
10 - 3	: 17/18	: 9/10	: 10/10	: 20/20
10 - 4	: 16/20	: 8/10	: 8/10	: 19/20
10 - 5	: 16/20	: 7/9	: 9/9	: 9/16
10 - 6	: 3/8	:	:	: 1/16
non infecté	: 3/15	:	:	:
ID 50	: 10 ^{-5,2}	:	:	: 10 ^{-5,1}
Dose	nombre de morts / nombre de souris. 2,5mg. de Terramycine 2 fois par jour pendant 4 jours puis 1 seule fois par jour les 3 jours suivants.			

c) Observations cliniques.

Elles portent sur sept malades atteints de grippe, dont le virus a été isolé sur cinq d'entre eux.

Traitement appliqué : 0,25g de terramycine toutes les 4 heures pendant 3 à 7 jours.

Cas n°1 : - Homme de 27 ans - présentant une température élevée, des courbatures - la formule sanguine montre une leucocytose à 16.200 avec 80 % de polynucléaires. Le prélèvement de gorge effectué donne de nombreux streptocoques hémolytiques ; l'hémoculture est négative. La dose totale de terramycine prescrite est de 10gr. 18 heures après le début du traitement le malade est apyrétique, les symptômes ont disparu ; on trouve encore du streptocoque hémolytique dans la gorge, mais le prélèvement suivant effectué quelques heures plus tard est négatif. Un virus grippal est isolé, à partir du gargarisme, sur oeuf embryonné de 9 jours, par voie amniotique.

Cas n° 2 : - La femme de ce malade présente un jour après son mari des symptômes plus sévères. Du prélèvement de gorge on isole un streptocoque viridans et un Neisseria Catarrhalis. Les mêmes doses de terramycine amènent le deuxième jour du traitement une nette amélioration, mais on note l'apparition de diarrhée qui dure dix semaines.

Le virus grippal est également isolé.

Cas n° 3 : - Leur fils âgé de 7 mois est malade le même jour que sa mère. Du prélèvement de gorge on isole aussi un streptocoque viridans. La terramycine à la dose de 0,25g toutes les six heures amène après 24 heures de traitement une amélioration. On observe les deux jours suivants un petit clocher thermique l'après midi. Evolution favorable très rapidement, l'état général n'est pas touché.

Cas n° 4 : - Homme de 22 ans, avec tableau clinique grippal. La formule leucocytaire est de 6.000 globules blancs avec 78 % de polynucléaires neutrophiles et 4 % d'éosinophiles. L'examen microbiologique du prélèvement de gorge donne : streptocoque viridans, Neisseria catarrhalis, Neisseria flavus et quelques staphylocoques dorés.

0,25 grs de terramycine toutes les quatre heures, avec un total de 15 grs ont amené 24 heures après le début du traitement une amélioration qui a évolué très vite vers la guérison.

Cas n° 5 : - Femme de 51 ans dont l'état général est mauvais depuis plusieurs années. Tableau clinique grippal. La formule leucocytaire donne 4.300 globules blancs dont 54 % de polynucléaires neutrophiles, 40 % de lymphocytes et 6 % de monocytes

On prélève de la gorge un streptocoque viridans, un *Neisseria catarrhalis*, un *Neisseria flavus*. La thérapeutique appliquée est : 0,50 gr de Terramycine toutes les 4 heures pendant 8 jours. La disparition de la fièvre est lente, elle n'est complète qu'au quatrième jour de traitement, la maladie évolue également lentement vers la guérison. Au deuxième jour de traitement, on observe des nausées et des vomissements qui persistent pendant toute sa durée.

Cas n° 6 : - Homme de 33 ans, présentant un syndrome grippal avec image radiologique du lobe pulmonaire inférieur droit.

L'examen bactériologique du prélèvement pharyngé montre un streptocoque viridans, un *Neisseria catarrhalis*, et un staphylocoque doré.

La formule leucocytaire est de 5.900 globules blancs dont 55 % de polynucléaires neutrophiles et 32 % de lymphocytes.

Le malade a reçu 0,50 gr. de terramycine toutes les quatre heures, soit une dose totale de 7,50 grammes : après 24 heures de traitement, on note une amélioration très nette de l'état grippal; et la disparition de la fièvre, l'image radiologique disparaît rapidement.

On sait que la Terramycine diffuse facilement et rapidement dans l'organisme après administration, soit par voie orale, soit par voie parentérale, et ceci, aussi bien chez les animaux que chez l'homme. Son élimination est assez lente. La teneur en Terramycine après une dose unique de 1 gr par voie buccale, ne commence à décroître qu'après la sixième heure, au bout de 24 heures, on retrouve encore un taux bactériostatique efficace.

La teneur en terramycine dans le sérum semble atteindre un plafond et n'augmente pratiquement plus si l'on dépasse 1 gr par prise. Le taux bactériostatique suffisant est de l'ordre de 1 à 3 mg par ml.

Avec une dose de 66 mg par kg chez le nourrisson, on obtient une concentration sanguine de 1 à 4 mg par ml.

D'après ces données, que peut-on conclure de l'action de la terramycine sur le virus tant dans le domaine expérimental que dans le domaine pratique. Nous pensons que ce que les auteurs américains ont considéré comme résultat négatif sur l'oeuf embryonné n'est pas absolument exact : les différences observées dans la multiplication du virus avec les lots traités et ceux non traités doivent être prises en considération, même si elles sont de faible importance. Les résultats obtenus à l'Institut Pasteur par Cl. HANNOUN témoignent qu'il s'agit peut être d'appliquer des méthodes plus précises et plus sensibles. Il est possible que le même facteur intervienne dans l'expérimentation sur la souris. Quant aux observations cliniques, l'examen ne porte que sur un nombre restreint de sujets. On note cependant que 4 sur 5 des malades dont on a isolé un virus grippal ont présenté une disparition des symptômes et de la fièvre en 24 heures ; le cinquième a fait une forme un peu plus trainante. Des troubles gastro-intestinaux ont été observés chez deux d'entre eux. Nous pensons que les résultats obtenus ne sont pas négligeables et que, dans certaines conditions, la terramycine soit basique, soit acide, possède une propriété virustatique qui peut agir sur la multiplication du virus grippal.

Viscosine KOCHI à Yokohama a trouvé que les cultures de *pseudomonas viscosa* produisaient un antibiotique actif in vitro, contre différents agents pathogènes. In vivo, il expérimenta sur la souris pour essayer de déterminer son action sur le virus grippal. De son étude il ressort que cette substance semble avoir un effet appréciable sur les lésions pulmonaires, les souris traitées et sacrifiées le troisième jour après l'inoculation présentent des lésions beaucoup moins importantes que les souris non traitées. Le stade expérimental n'a pas été dépassé.

Erhlichine L'erhlichine est sécrétée par une souche de streptomyces lavendulae. D'après WAKSMAN, elle aurait une action virulicide. Des expériences ont été faites sur l'oeuf embryonné et sur la souris avec les souches grippales de types A (PR8) et B (LEE).

Les essais effectués in vitro seraient en faveur d'une activité virulicide de cet antibiotique vis-à-vis des deux types de souches de virus grippal étudiées, tandis que son action in vivo serait limitée au virus de type B. Cet antibiotique aurait un pouvoir virulicide puissant sur le virus de la maladie de Newcastle, il empêcherait la mort des embryons de poulet inoculés avec ce virus et il aurait une action spécifique sur les virus, ne possédant aucune propriété bactéricide.

Ekmoline L'ekmoline est une substance extraite d'organes de poisson (foie - corps thyroïde - coeur) par J. ERMOLIEVA, en Russie. Le mode de préparation n'est pas indiqué. D'après l'auteur, cette substance serait efficace sur les infections grippales, l'expérimentation sur la souris et sur l'homme se serait montrée positive.

Elle peut être employée à titre prophylactique et à titre curatif. Dans le premier cas, elle est utilisée par voie intra-nasale en instillations, dans le second par voie intra-nasale et par voie intra-musculaire (2 injections de 1ml.).

Comment agit ce produit et doit-on le classer dans les antibiotiques ?

Il se rapprocherait plutôt des substances vitaminiques et là encore le temps nous dira ce qu'il vaut.

Pour les antibiotiques tels que l'érythromycine, la magnamycine, la bacitracine, la polymyxine, la néomycine, la viomycine, la tyrothricine, la gramicidine, la subtiline et la liste pourrait encore s'allonger, nous n'en sommes qu'à la période de recherches pures.

Il nous reste à retenir que des expériences doivent être poursuivies sur l'action virustatique de l'auréomycine et surtout de la terramycine dans les infections grippales. L'ère des recherches ne fait que s'ouvrir dans ce domaine ; elle nous apportera certainement la réalisation de grands espoirs.

Chimiothérapie de la grippe.

Depuis l'isolement du virus grippal, de nombreux chercheurs se sont orientés vers la chimiothérapie, domaine vaste s'il en est. ANDREWES, KING et VAN DEN ENDE ont expérimenté sur la souris diverses substances, par voie intra-nasale. Ils en ont testé 115, parmi elles, nous pouvons citer certains alcaloïdes dont la quinine, des composés arsenicaux, des sulfamides, des composés nitrés, des colorants, certaines acridines. Aucune de ces substances, à la suite de

ces expériences, ne semble avoir eu une action spécifique sur le virus. En 1944, d'autres auteurs ont associé des traitements sulfamidés à une thérapeutique vitaminique. Les résultats positifs rapportés sont ceux de CLIMENKO, CROSSLEY et NORTHEY qui ont observé que le disulfamilamide et certains de ses dérivés agissaient sur la souris, par voie parentérale si la souche de virus grippale était peu virulente.

Acridine

Les expériences effectuées avec différentes acridines doivent être mentionnées ; sur l'oeuf embryonné, ainsi que sur la souris leur action n'est pas négative. Les travaux de GREEN, RASMUSSEN et SMADEL ont montré l'action inhibitrice de la multiplication du virus grippal type B sur l'oeuf embryonné avec la nitro-acridine 3582. Des doses non toxiques pour l'embryon et pour l'animal semblent actives contre le virus.

L'acridine appliquée en thérapeutique humaine à la dose de 0, 10 gr, 3 fois par jour durant la période de pyrexie et un jour après la chute de température a donné parfois des résultats satisfaisants. Les auteurs russes louent les bienfaits de son action lors d'une épidémie de grippe à Moscou. La tryptaflasine est une des plus actives

Irgapyrine

L'irgapyrine agit comme antipyrétique, antinévralgique et antimyalgique. Une observation intéressante a été publiée en Suisse lors d'une épidémie de grippe qui sévit dans une école militaire. Cette étude est faite sur 40 cas affectant des jeunes gens de 20 à 22 ans, vivant dans les mêmes conditions et soumis aux mêmes efforts. Les observations que nous soumettons se rapportent à des malades ayant été traités d'abord par l'aspirine et la quinine, d'autres présentant des complications O.R.L. ou pulmonaires. (voir tableau p.22).

Cas n° 19 : - Malade entre à l'infirmérie le 6 mars. Diagnostic : grippe. Température à 39°, Myalgie, céphalées. Traitement : aspirine 2 fois 2 comprimés par 24 heures. Quinine, 2 fois 2 comprimés par 24 heures pendant 2 jours. La température descend très rapidement à 37°. Les céphalées disparaissent mais la lombalgie persiste. Au troisième jour, la température remonte, on fait un traitement à l'Irgapyrine 3 fois 2 comprimés par 24 heures pendant deux jours. Amélioration le lendemain. Le malade quitte l'hôpital le 11 mars guéri.

Cas n° 20 : - Entre le 15 mars à l'infirmérie avec rhinopharyngite - état fébrile - traitement : gargarisme, gouttes intranasales, Irgapyrine 3 fois deux comprimés par jour. Céphalées et myalgies disparaissent rapidement. Reste subfébrile pendant 3 jours. Guéri le 19 mars.

Cas n° 21 : - Entre à l'infirmérie le 25 mars - température 37°8, syndrome grippal. L'Irgapyrine est administrée le lendemain soir à raison de trois fois deux comprimés par 24 heures. La température tombe rapidement à 36°6. Le 27, le malade est guéri.

Cas n° 22 : - Entre le 31 mars à l'infirmérie. Température 37°6 syndrome grippal. Traitement à l'Irgapyrine le 1er avril au matin. 24 heures après la température est à 37°2. Quitte l'infirmérie le 5 Avril.

Cas n° 24 : - Hospitalisé le 24 mars au soir. Température 38°2 Le lendemain 39°4. On fait un traitement à l'Irgapyrine. Le 26 au soir température 37°4. Le 27, nouveau clocher à 39°. Le malade

reçoit alors des antibiotiques qui amènent la guérison.

Cas n° 25 : - Entre à l'infirmérie le 24 mars au soir, température 39°5, le lendemain matin prescription de l'Irgapyrine. Le 28 mars, le malade est guéri.

A l'action antipyrétique de l'Irgapyrine s'ajoute une action analgésique puissante qui atténue rapidement les myalgies grippales. Il faut toutefois faire des réserves sur ces observations, car aucun contrôle de laboratoire n'est venu affirmer avec certitude l'étiologie grippale.

L'Irgapyrine donnée à des concentrations importantes peut provoquer des altérations de la formule sanguine, mais, administrée aux doses que nous avons citées, aucune perturbation hémato-logique n'a été notée. (Tableau page 22).

	Etat du malade	Dosage	Disparition des sympto- mes subjec- tifs après	Apyré- tique après	Durée de la mala- die
Cas 1	Etat grippal Céphalées Myalgies Lombalgies Température 38°	3 x 2 par jour pendant 2 jours 3 x 1 le 3è jour	24 h.	48 h.	3 jours aucune asthénie
Cas 2	Céphalées Myalgies Température 38°6	3 x 2 par jour pendant 2 jours	24 h.	24 h.	2 jours
Cas 3	Etat grippal Myalgies Température 39°	2 x 2 par jour pendant 2 jours	24 h.	36 h.	3 jours
Cas 4	Etat grippal Température 38°4	3 x 2 par jour pendant 2 jours	24 h.	24 h.	48 heures
Cas 5	Etat grippal Température 37°5	1 x 2 1er jour 3 x 2 2eme jour	24 h.	24 h.	48 heures
Cas 6	Symptomes de grippe Température 38°2	3 x 2 par jour	24 h.	48 h.	48 heures
Cas 7	Grippe Température 38°6	3 x 2 par jour	48 h.	48 h.	48 heures
Cas 8	Etat grippal Température 38°	3 x 2 par jour	24 h.	24 h.	48 heures
Cas 9	Symptomatologie de la grippe. Température 38°	3 x 2 par jour	24 h.	24 h.	36 heures
Cas 10	Etat grippal Température 37°6 et 37°4 après 24 heures	3 x 2 par jour	36 h.	36 h.	48 heures
Cas 11	Malaise général température 38°	3 x 2 par jour	24 h.	24 h.	36 heures
Cas 12	Grippe Température 38°3	3 x 2 par jour	12 h.	12 h.	3 jours
Cas 13	Etat grippal Température 37°5	3 x 2 par jour	24 h.	24 h.	36 heures

Cas 14	Etat grippal caracté- risé - Température 39°	3 x 2 par jour	24 h.	24 h.	3 jours
Cas 15	Symptomatologie subjec- tive de la grippe Température 37°	3 x 2 par jour	24 h.	36 h.	2 jours
Cas 16	Symptomes grippaux caractérisés Température 39°4	3 x 2 par jour	48 h.	48 h.	4 jours
Cas 17	Grippe Température 38°4	3 x 2 par jour	12 h.	24 h.	36 heures
Cas 18	Grippe Température 38°7	3 x 2 par jour	moins nette que dans les précédents cas	3 j.	5 jours

Inhibiteurs enzymatiques. - Certaines substances inhibent telle ou telle réaction enzymatique intervenant dans la chaîne des oxydations cellulaires (W.W. ACKERMANN). L'action du malonate de soude entre autres, a été étudiée sur la déshydrogénase succinique (Cl HANNOUN). Trois inhibiteurs différents intervenant sur la déshydrogénase succinique se sont montrés inhibiteurs de la multiplication du virus grippal sur embryon de poulet.

Action inhibitrice d'analogues.

a) - L'acide amino-méthane sulfonique, analogue du glycocolle, empêche l'utilisation de cet amino-acide, à condition d'être présent en plus forte proportion que lui. Dans l'oeuf embryonné infecté de virus grippal (souche A PR8) la multiplication du virus se trouve inhibée dans une certaine proportion. On peut penser que l'excès d'acide amino-méthane-sulfonique empêche l'utilisation du glycocolle qui doit intervenir dans une synthèse essentielle à la multiplication du virus.

b) - Le benzimidazole dont la formule est voisine de celle de l'adénine possède des propriétés antagonistes vis-à-vis de cette purine. Si l'on fait agir le benzimidazole dans certaines conditions sur l'oeuf embryonné infecté de virus grippal (souche A PR8) la multiplication se trouve inhibée. Nous ne donnons là que des résultats, nous n'avons pas à nous étendre ici sur le mécanisme de cette action.

D'autres analogues des bases puriques et pyrimidiques se sont montrés actifs sur l'inhibition de la multiplication du virus grippal.

Autre inhibiteur : La thiosamicarbazone de la p-acétamino-benzaldéhyde.

Certaines thiosamicarbazones ont un pouvoir virustatique sur le virus vaccinal (R.L. THOMPSON), c'est ce qui a incité Cl. HANNOUN à étudier l'action de la thiosamicarbazone de la p-acétamino-benzaldéhyde sur la multiplication du virus grippal. Cette substance n'a pas d'action virulicide directe, mais elle a le pouvoir d'inhiber notablement la multiplication du virus grippal A (PR8).

De différentes substances chimiques étudiées, nous avons constaté que plusieurs d'entre elles sont à considérer dans leur action soit virulicide, soit virustatique sur le virus grippal. Ne sont retenues que les expériences qui se sont montrées positives à une concentration non toxique de la substance examinée pour l'embryon de poulet. L'étude doit être poursuivie dans différentes voies et si elle confirme les résultats obtenus, un grand pas sera fait vers une thérapeutique spécifique de l'infection grippale.

VITAMINES.

Il est probable qu'en associant, au traitement spécifique grippal, de l'acide ascorbique à une concentration suffisante, on favorise la résistance cellulaire indirectement, en intensifiant les phénomènes d'oxydo-réduction. D'autres vitamines dont le complexe B, pourraient également jouer un rôle dans la résistance de l'organisme à l'infection.

D'après ces données, qui sont loin de n'apporter que des résultats négatifs, nous voyons qu'un vaste champ de recherches s'offre aux biologistes ; nul doute qu'un jour on arrive à juguler les infections grippales, comme on jugule les infections bactériennes.

CONCLUSIONI. ANTIBIOTIQUES

Dans ce bref aperçu se rapportant à l'action des antibiotiques et de certaines substances chimiques sur le virus grippal, nous constatons que la pénicilline, la streptomycine, la chloromycétine n'agissent que sur des bactéries secondaires, c'est à dire dans les complications bactériennes post-grippales. Les recherches effectuées jusqu'à ce jour, nous font admettre qu'en ce qui concerne

a) l'auréomycine, les travaux de FINLAND peuvent faire penser que cet antibiotique a peut être un certain effet virustatique, la période de pyrémie que l'on peut attribuer spécifiquement à l'atteinte de l'organisme par le virus grippal étant diminuée après traitement à l'auréomycine ; cet effet n'a pas été constaté avec le traitement soit à la pénicilline, soit à la streptomycine, ou à la chloromycétine. Toutefois, des recherches plus approfondies méritent d'être effectuées et l'on ne peut assurer son action évidente que sur certaines bactéries.

b) la Terramycine. Les expériences que nous avons relatées, effectuées sur l'oeuf de poule embryonné, ont montré que la Terramycine sodique avait, dans certaines conditions, une action virustatique. Ces recherches doivent être poursuivies et il est possible que par l'application de méthodes plus précises et plus sensibles que celles employées par les auteurs américains on arrive à démontrer son effet d'une manière plus évidente. Si l'expérimentation sur la souris s'est montrée négative, les observations cliniques rapportées chez

des malades atteints de grippe et traités à la terramycine montrent un raccourcissement de la durée de la maladie, se rapportant à l'atteinte virale proprement dite ; cependant, on ne peut en tirer une conclusion définitive.

c) Quant à la viscosine, à l'ehrllichine et aux antibiotiques récemment étudiés qui ne sont encore qu'au stade expérimental, nous ne pouvons pas interpréter leur action sur la grippe humaine.

II CHIMIOThERAPIE.

Si depuis l'isolement du virus de la grippe, de multiples essais ont été effectués avec diverses substances chimiques telles que : les alcaloïdes, les composés arsenicaux, les antimoinés, les sulfamides, les salicylates, certains colorants et d'autres encore, sans pouvoir affirmer leur effet spécifique sur le virus à des doses non toxiques, de grands espoirs peuvent être fondés sur l'action inhibitrice de la multiplication du virus grippal par certaines substances. Nous citerons entre autres certains enzymes, des amino-acides ou des analogues d' amino-acides. Les études qui se poursuivent actuellement et qui se rapportent à des expériences sur l'oeuf embryonné et sur la souris ont montré que certaines des substances examinées n'avaient pas de pouvoir virulicide direct mais que leur action intervient à certains stades de la synthèse du virus dans la cellule sensible.

Une nouvelle voie est donc ouverte ; elle nous laisse espérer que ce qui est encore du domaine expérimental sera bientôt applicable à la grippe humaine, avec des résultats satisfaisants.

Parallèlement, on peut penser que l'action de certaines vitamines intervenant dans la résistance cellulaire ou dans les phénomènes d'oxydo-réductions intra-cellulaires pourrait jouer un rôle dans la résistance de l'organisme à l'infection.

Les progrès réalisés dans l'étude de la thérapeutique du virus grippal, nous permettent donc d'envisager l'avenir avec un certain optimisme.

BIBLIOGRAPHIE

Andrewes, C.H., King, H., Van den Ende, M.

Journal of Pathology and Bactériology, 1943, 55, 173-181

Ackermann, W.W.

Journal of experimental Medicine 1951, 93, 337

Blake, F.G. Friou, G.J., Wagner, R.R.

Yale Journal of Biology and Medicine, 1950, 22, 495-501

Briody, B.A., Stannard, C.

Journal of Immunology, 1951, 67, 423-430

Collins.

Archives of international Medicine, 1949, 84, 875.

Climenko, D.R., Grossley, M.L., Northey, E.H.

Journal of amer. med. Association, 1938, 110, 2099.

Journal of Pharm. et exper. Therapy, 1939, 67, 201-11

Corboud et Han.

Praxis 42e année, janvier 1953, 33.

Ermelieva et collaborateurs.

Medizinski Rabotnik, 6 mai 1951, 32 ; Medecine & Hygiène,

1951 - 2 - 201.

Eaton, M.D. Nagasanik, B. Perry, N.E. Karabian, D.

Proceedings of the Soc. exper. Biology & Medicine, 1951 -

77, 505.

Eaton, M.D., Levenson, C.G., Perry, N.

Journal of Immunology, 1952, 68, 1 - 9

Eaton M.D., Perry Levenson, C.G. Glocke, I.M.

Journal of Immunology, 1952, 68, 321-324.

Florman, A.L., Weiss, A.B., Council, F.E.

Proceed. of Soc. exper. Biology & medicine, 1946, 61, 16-18.

Finland, M., Wels, E.B. Collins, H.S., Cocke, T.M.

Amer. Journ. of Medicine, 1950, 8, 21-30.

Finlay, A.C. et collaborateurs.

Science, 1950, 111, 85.

Findlay.

Journal of Pharmacy & Pharmacology, 1951, 3, 193 - 212.

Fauconnier.

Ann. Inst. Pasteur, 1953, 84, 474 - 77

Ann. Inst. Pasteur, 1953, 85, 222 - 229

Groupe et all.

Journal of Immunology, 1951, 67, 471.

Green, R.H., Rasmussen, A.F. Smadel, J.E.

Public Health Reports, 1946, 66, 1401 - 1403.

Horsfall.

Amer. Journ. o Medical Sciences, 1950, 220, 91.

Hoyle, L.

Bristish Journ. of exper. Pathology, 1949, 30, 123 - 136

Hannoun

Riassunti delle Comunicazioni. VIe Congr. intern. di Microbiologia, 1951, I, p.271 - 2 -

C.R. Acad. Sc., 1952, 235, 1340-42 ; 1952, 235, 1445-46 ;
1953, 236, 864-65 ;

Kase, E.H., Barnes, M.V., Finland, M.

Ann. of New York Acad. of Sciences, 1950, 53, 412-421

Kase, E.H. Lundgren, H.N., Finland, M.

Proceed. Soc. exper. Biol. & Medicine, 1950, 75, 520-523

Kramer, S.D., Geer, H.A., Szobel, D.A.

Journal of Immunology, 1944, 49, 273-314.

Knight, V.A., Stanley, W.M.

Journal of exper. Medicine, 1944, 79, 291-300.

Klein, M.

Science, 1945, 101, 587-89.

Lowell, F.G. Buckingham, M.

Proceed. Soc. exper. Biology & Medicine, 1946, 62, 228-231.

Levaditi.

Presse Médicale, 1952, 60, 35, 761-62.

Melcher et al.

Journ. amer. Med. Association, 1950, 143, 1303-5.

Martin, R.

Comment traiter par les antibiotiques. Edition Flammarion-1953.

Quilligan.

Annals of New York Acad. Science, 1950, 53, 407-411.

Rasmussen, A.F., Stokes, J.C.

Journal of Immunology, 1951, 66, 237-247.

Rubín, B.A. Giarman, N.J.

Yale Journ. of biol. & Medicine, 1947, 19, 1017-22.

Smadel, J.E., Jackson, E.B.

Science, 1947, 106, 418.

Smith, R.N. et al.

Journal of Bacteriology, 1948, 55, 425-448.

Schoenbach et al.

Journ. of amer. med. Association, 1949, 139, 275.

Salk.

Science 1948, 108, 749.

Schaffer, M., Silver, F.F., P. c. C.C.

Journal of Immunology, 1949, 63, 109-115.

Thalmann, V.O., Kempe, C.H., Worrall, J.A., Neiklejohn, G.

Journal of amer. Med. Association, 1950, 144, 1156.

Taen, I., Folker, K., Horsfall, F.L.

Journal of clin. Investigations, 1952, 31, 666.

Takemoto, K.K., Robbins, N.L. Smith, P.K.

Bacteriology Proceedings, 1952, 117

Tonelli, A.

Semana Medica, 7 août 1952.

Vinson, J.W. Walsh., F.T.

Journal of Immunology, 1950, 65, 129-134.

Vincent Groupe.

Proceed. of Soc. exper. Biol. & Medicine, 1951 - 78, 354-356.

Wong, S.C., Cox, H.R.

Annals of New York Acad, of Sciences, 1948, 51, 290-305.

Waksman.

Bacteriology Proceedings, 1951, 29.

Wheeler, A.H. Nungester, W.J.

Science, 1944, 100, 523

